

VARIASI KISMIS DAN SUKROSA TERHADAP PERTUMBUHAN, ASAM LAKTAT, DAN ALKOHOL KRISTAL ALGA

Variation Raisin and Sucrose on Growth Rate, Lactic Acid, and Alcohol of Algae
Crystal

Giovanni Aditya Gunawan¹, P. Kianto Atmodjo², B. Boy Rahardjo Sidharta³

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta,
Jalan Babarsari 44, Yogyakarta 55281
giovanniadityagunawan@yahoo.com

Abstrak

Kristal alga memiliki khasiat yang baik untuk pencernaan karena bersifat probiotik sehingga menjadi kebutuhan untuk menjaga daya tahan tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat kimia (pH, kadar asam total, kadar gula reduksi, dan kadar alkohol) kristal alga dalam melakukan fermentasi dan peningkatan biomasnya. Kristal alga dibudidayakan dalam penelitian ini berasal dari kota Yogyakarta. Medium pertumbuhan berupa air, gula pasir, dan kismis. Penelitian ini dikerjakan dalam eksperimen Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan faktor 1 adalah gula (15, 45, dan 85 gram) dan faktor 2 adalah kismis (5,10, dan 15 gram). Kualitas fisik dan kimia kristal alga diteliti berdasarkan derajat keasaman, pertambahan berat, kadar asam total, gula reduksi, dan kadar alkohol. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu pertumbuhan optimal kristal alga pada pemberian medium gula 85 gram dan kismis 15 gram. Kristal alga dengan penambahan gula 85 gram dan kismis 15 gram mempunyai nilai pH tertinggi yaitu 4,04, kadar asam total tertinggi yaitu 3,27%, kadar gula reduksi tertinggi yaitu 2,21 mg/ml, dan kadar etanol berkisar 0,55% hingga 0,62% setelah fermentasi selama 7 hari. Pertambahan berat kristal alga tertinggi memiliki hasil peningkatan berat segar sebanyak 1,55 dan 1,21 gram, sedangkan peningkatan berat kering sebanyak 3,58 dan 2,02 gram.

Kata Kunci: Kristal alga, Etanol, Asam Laktat Total.

Abstract

Crystals algae has properties that are good for digestion because it is a probiotic that it becomes a need to keep the immune system. This study aims to determine the chemical properties (pH, total acid content, reduction sugar and alcohol content) crystal algae in fermentation and increase in biomass. Crystals algae cultivated in this study came from the city of Yogyakarta. Growth medium is water, sugar, and raisins. This research was done in a completely randomized design Factorial experiments by a factor of 1 is the sugar (15, 45, and 85 grams) and the second factor is the raisins (5,10, and 15 grams). Physical and chemical quality crystal algae studied by the degree of acidity, weight gain, total acid content, reducing sugar and alcohol content. The results obtained in this study is optimal crystal growth of algae in the delivery medium 85 grams of sugar and 15 grams of raisins. Crystals algae with the addition of 85 grams of sugar and 15 grams of raisins has the highest pH value is 4.04, the highest total acid content of 3.27%, the highest sugar content reduction of 2.21 mg / ml, and the ethanol content ranges from 0.55% up to 0.62% after fermentation for 7 days. Weight gain crystal has the highest algae resulting increase in fresh weight as much as 1.55 and 1.21 grams, whereas the increase in total dry weight of 3.58 and 2.02 grams.

Keywords: Crystal algae, Ethanol, Lactic Acid Total.

Pendahuluan

Kristal alga (Gambar 1) adalah minuman dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL) (seperti : *Lactobacillus*, *Lactococcus* dan *Leuconostoc*), khamir (seperti : *Saccharomyces cereviceae* dan *Candida kefir*) dan bakteri asam asetat (*Acetobacteria*) (Farnworth dan Mainville, 2008). Mikroorganisme kristal alga dapat dilihat pada Gambar 2. Kristal alga memiliki sinonim *Tibi grain* (Lutz, 1899), *Water kefir* (Alsayadi dkk., 2013), *California beer*, *Afrika beer*, *Ale nuts*, *Balm of gilead*, dan *Japanese beer seeds* (Kebler, 1921). Kristal alga merupakan hasil fermentasi larutan gula yang mengandung asam laktat, asam asetat dan ragi yang menghasilkan molekul penting seperti polipeptida, polisakarida, asam organik, dan senyawa lainnya (Schneedorf, 2012).



Gambar 1. Butiran Kristal Alga yang Digunakan untuk Fermentasi Kristal Alga (Sumber : Stadie, 2013)

Keterangan : Kristal alga yang dikulturkan pada medium sukrosa dan kismis selama 24 jam. Berwarna putih bening, berukuran 0,2- 3 cm, rapuh terhadap tekanan, berbau masam, dan berbentuk menyerupai agar-agar.



Gambar 2. Mikroorganisme yang Terkandung di dalam Kristal Alga (Sumber : Ghoneum dan Gimzewski, 2014)

Keterangan : Gambar sebelah kiri : *Lactobacillus kefir*, gambar tengah : *Saccharomyces cereviceae*, dan gambar sebelah kanan : *Acetobacter aceti*.

Kristal alga merupakan produk fermentasi yang mengandung alkohol 0,5-1,0% dan asam laktat 0,9-1,11% (Rahman dkk., 1992). Kristal alga dibuat dari campuran air, buah-buahan kering seperti kismis, potongan kecil dari lemon, dan gula pasir (Gulitz dkk., 2011). Gula pasir atau sukrosa dan kismis merupakan bahan bakar yang digunakan dalam proses fermentasi kristal alga terutama dalam siklus glikolisis (Purwoko, 2007). Hasil fermentasi yang dihasilkan kristal alga berupa asam organik (seperti : asam laktat) dan etanol (Bahar, 2008).

kristal alga memiliki khasiat yang baik untuk tubuh seperti memperbaiki sistem pencernaan dan penyerapan nutrisi makanan, memperlancar buang air besar, menyembuhkan gangguan kesehatan (diabetes, hipertensi dan tumor), menurunkan kadar kolesterol, mengurangi risiko penyakit jantung koroner, mencegah infeksi saluran urine, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menjaga stamina dalam tubuh (Bahar, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui banyak (gram) gula dan kismis yang optimal terhadap pertumbuhan kristal alga, mengetahui penambahan berat kering dan berat segar, serta mengetahui kandungan etanol di dalam kristal alga.

Metode Penelitian

1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan selama 3 bulan, yaitu bulan September hingga November 2014 di Laboratorium Teknobia-Industri Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Pengukuran kadar alkohol pada bulan Januari 2015 dilakukan di Laboratorium Teknobia-Industri, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter (Lovibond), UV spektrofotometer (Shimadzu UV-1800), *magnetic stirrer hot plated* (Favorit HS0707V2), autoklaf (Hiclave Hirayama HVE-50), timbangan elektrik (Mettler Toledo AL204), mikroskop model L301, kalkulator, alat tulis, botol jam 350 ml, gelas ukur 100 ml, saringan, pipet tetes, pipet ukur, propipet, Erlenmeyer 250 ml, cawan plastik, cawan porselen, gelas beker, eksikator non vacuum, gelas pengaduk, gelas penutup, labu ukur 100 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan Conway, oven (Venticell), kompor (Rinnai RY-450GTX), kertas saring, sendok plastik, corong, aluminium foil, statis, dan buret.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kristal alga, akuades, glukosa anhidrat, reagen arsenomolibdat, alkohol 70%, alkohol 96%, kismis kering, gula pasir, reagen nelson A, reagen nelson B, larutan bikromat asam, Na_2CO_3 20%, vaselin, indikator PP, dan NaOH 0,1N.

3. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dirancang secara acak lengkap faktorial (RALF) terhadap komposisi medium pertumbuhan. Faktor 1 adalah medium gula sebanyak 15, 45 dan 85 gram dan faktor 2 adalah kismis sebanyak 5, 10 dan 15 gram. Ulangan dilakukan sebanyak tiga kali untuk masing-masing perlakuan. Kondisi kultur dilakukan pada suhu 25 - 27°C selama 7 hari.

4. Cara Kerja

Penelitian ini terdiri dari tiga tahap, yaitu pertumbuhan dan pemeliharaan kristal alga, uji kristal alga yang meliputi uji kandungan kimia kefir (pengukuran pH, kadar asam total, kadar gula reduksi, dan kadar etanol) dan mengukur pertumbuhan dengan metode pengukuran pertambahan berat. Analisis data dilakukan menggunakan ANAVA dan dilanjutkan dengan DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk mengetahui letak beda nyata antarperlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil dan Pembahasan

A. Perubahan pH Medium Kristal Alga

Menurut Bahar (2008), metabolisme hasil fermentasi kristal alga berupa asam organik seperti asam laktat dan asam asetat. Fermentasi kristal alga dipengaruhi oleh pH sebagai salah satu parameter pertumbuhan (Schneedorf, 2012). Pertambahan gula dan kismis ke dalam kristal alga membuat pH kristal alga semakin rendah. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perubahan pH Medium Kristal Alga Interaksi antara Gula dan Kismis.

pH		Gula			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis	5	3,74	3,78	3,97	3,83 ^a
	10	3,83	3,9	4,05	3,93 ^{ab}
	15	3,87	3,93	4,11	3,97 ^b
Rata-rata		3,81 ^a	3,87 ^a	4,04 ^b	

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Hasil pengukuran pH kristal alga yang didapat dalam penelitian ini selama 7 hari memperoleh hasil pH pada tiap variasi medium menunjukkan penurunan pH berkisar 0,48 hingga 1,26. Peningkatan asam tertinggi pada medium gula gula 85 gram yaitu pada pH 4,04 peningkatan asam terendah pada medium kismis 5 gram yaitu pada 3,83.

Hasil pengujian ini memperlihatkan bahwa derajat keasaman kristal alga yang paling rendah adalah medium gula 15 gram dan kismis 5 gram. Kristal alga menghasilkan pH 4,5 menggunakan medium gula (Schneedorf, 2012). Hasil yang didapat dalam penelitian ini memiliki hasil yang berbeda yaitu pH terendah yang dihasilkan adalah 3,81 pada pemberian medium gula 15 gram. Hal ini disebabkan karena penambahan kismis memberikan pengaruh terhadap peningkatan keasaman dalam kristal alga. Semakin banyak sukrosa yang diberikan menyebabkan semakin rendah pH kristal alga dan mengakibatkan meningkatnya produksi asam laktat (Misrianti, 2013).

B. Pengukuran Pertambahan Berat Kristal Alga

Pengukuran pertambahan berat pada penelitian ini menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada pemberian medium kismis, sedangkan pada pemberian medium gula memberikan hasil berbeda nyata pada setiap variasi medium. Hal ini disebabkan gula yang terdapat dalam medium digunakan oleh khamir untuk melangsungkan pertumbuhan dan pembentukan etanol (Barnett dkk., 2000). Hasil pengukuran pertambahan berat segar dan berat kering kristal alga dengan variasi medium kismis dan gula dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Pertambahan Berat Segar (gram) Kristal Alga Interaksi antara Gula dan Kismis Selama 7 Hari Inkubasi.

Pertambahan Berat		Gula (gram)			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis (gram)	5	0,49	1,01	1,28	0,93 ^a
	10	0,76	1,22	1,53	1,17 ^a
	15	0,62	1,04	1,85	1,21 ^a
Rata-rata		0,66 ^a	1,09 ^b	1,55 ^c	

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 3. Pertambahan Berat Kering (gram) Kristal Alga Interaksi antara Gula dan Kismis Selama 7 Hari Inkubasi.

Pertambahan Berat		Gula (gram)			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis (gram)	5	0,21	1,44	3,31	1,65 ^a
	10	0,36	1,74	3,59	1,9 ^a
	15	0,28	1,58	3,85	2,02 ^a
Rata-rata		0,40 ^a	1,59 ^b	3,58 ^c	

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Pada penelitian ini berat sampel awal kristal alga 15 gram memiliki berat kering 1,8541 gram, pemberian medium gula sebanyak 85 gram dan

kismis 15 gram didapatkan hasil berat kering sebanyak 3,5837 gram dan 2,0213. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Schneedorf (2012), peningkatan berat kristal alga selama 7 hari menghasilkan peningkatan berat 33,8 % dari berat semula.

Hasil yang di dapat tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Schneedorf (2012), dikarenakan pemberian medium yang berbeda yang menimbulkan nilai pH, kadar asam, dan gula reduksi yang dihasilkan memberikan pengaruh terhadap peningkatan biomassa dalam kristal alga. Berat segar dan berat kering kristal alga setelah proses fermentasi selama 7 hari memiliki perbedaan biomassa mikrobial dalam kumpulan biomassa kristal alga yang terkandung memiliki peningkatan jumlah dalam satu wadah (Schneedorf, 2012).

Hasil pengukuran kadar asam total kristal alga selama 7 hari dapat dilihat pada Tabel 4. Perlakuan variasi pertambahan gula dan kismis memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap kadar asam total (dihitung sebagai kadar asam laktat) kristal alga. Kadar asam total tertinggi pada medium gula 15 gram dan kismis 10 gram, sedangkan kadar asam total terendah pada medium gula 45 gram, 85 gram, dan kismis 5 gram. Kadar asam total yang didapat dalam penelitian ini berkisar antara 2,1 – 3,267%, Pemberian gula dan kismis ke dalam kristal alga menyebabkan peningkatan kadar asam total.

Tabel 4. Pengukuran Kadar Asam Total (%) Kristal Alga Interaksi antara Gula dan Kismis Selama 7 Hari Inkubasi.

Kadar asam total		Gula (gram)			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis (gram)	5	2,7	1,8	1,8	2,11 ^a
	10	3,81	2,4	2,06	2,46 ^a
	15	3,43	3,17	2,49	3,27 ^b
Rata-rata		2,1 ^a	2,76 ^b	2,98 ^b	

Keterangan : angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Pada penelitian ini menunjukkan semakin banyak medium gula dan kismis diberikan, maka semakin meningkat kadar asam total yang terkandung di dalam kristal alga. Hal ini dikarenakan tercukupinya kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan mikrobial yang terdapat dalam kristal alga (Meiridiyanto, 2005). Penambahan medium kismis dan gula menyebabkan berlimpahnya nutrisi di dalam kristal alga sehingga aktivitas mikroorganisme akan semakin meningkat. Berdasarkan penelitian Pogacic dkk. (2013), kadar asam laktat yang dihasilkan kristal alga berkisar 0,5-0,7% dengan menggunakan gula. Pada penelitian ini, kristal alga menghasilkan kadar asam laktat pemberian medium gula 85 gram dan kismis 15 gram sebanyak 2,98% dan 3,27%. Hasil yang didapat berbeda dengan penelitian Pogacic dkk. (2013), dikarenakan pemberian kismis pada medium kristal alga memberikan peningkatan kadar asam lebih banyak dibandingkan hanya dengan pemberian gula.

C. Kadar Gula Reduksi Kristal Alga

Hasil pengujian kadar gula reduksi kristal alga dalam penelitian ini berkisar antara 1,97 hingga 2,21 mg/ml. Kadar gula reduksi tertinggi adalah

kristal alga dengan medium gula 15 gram dan kismis 5 gram, sedangkan kadar gula reduksi terendah adalah kristal alga dengan medium gula 85 gram dan kismis 15 gram. Pemberian medium gula pada kristal alga dan kismis tidak memberikan hasil berbeda nyata. Kadar gula reduksi yang diuji pada kristal alga pada beberapa variasi medium kismis dan gula menunjukkan hasil dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengukuran Kadar Gula Reduksi (mg/ml) Kristal alga Interaksi antara Gula dan Kismis Selama 7 Hari Inkubasi.

Kadar gula reduksi		Gula (gram)			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis (gram)	5	2,36	2,17	2,11	2,01 ^a
	10	2,02	2,18	1,97	2,06 ^a
	15	2,11	2,07	1,84	2,21 ^a
Rata-rata		1,97 ^a	2,14 ^a	2,16 ^a	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Peningkatan kadar gula reduksi merupakan aktifitas bakteri kristal alga melakukan pemecahan sukrosa menjadi monosakarida yang lebih kompleks (glukosa dan fruktosa) (Lehninger, 1990). Sukrosa yang tinggi memerlukan proses dalam pemecahan sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi dalam proses fermentasi (Lehninger, 1990).

D. Kadar Etanol Kristal Alga

Hasil pengujian ini memperlihatkan kadar etanol kristal alga dalam penelitian ini berkisar 0,56 - 0,62%. Kadar etanol tertinggi adalah kristal alga dengan medium gula 85 gram dan kismis 15 gram, sedangkan kadar etanol terendah pada medium gula 15 gram dan kismis 10 gram. Peningkatan kadar etanol disebabkan kadar etanol yang terbentuk oleh aktivitas khamir yang

meningkat dalam memecah gula dan menghasilkan etanol dalam kondisi anaerob (Meiridiyanto,2005).

Kadar etanol berdasarkan Tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan Kristal alga dengan penambahan variasi gula 85 gram dan kismis 15 gram menunjukkan nilai yang berbeda nyata dibandingkan variasi perlakuan yang lain. Peningkatan kadar etanol disebabkan oleh aktivitas khamir yang meningkat dalam memecah gula dan menghasilkan etanol (Hidayat dkk.,2006).

Tabel 6. Kadar Etanol (%) Kristal alga Interaksi antara Gula dan Kismis Selama 7 Hari Inkubasi.

Kadar etanol		Gula (gram)			Rata-rata
		15	45	85	
Kismis (gram)	5	0,59	0,59	0,62	0,56 ^a
	10	0,53	0,54	0,61	0,56 ^a
	15	0,56	0,56	0,63	0,62 ^b
Rata-rata		0,56 ^a	0,58 ^{ab}	0,6 ^b	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Dominasi bakteri asam laktat menyebabkan persentase keberadaan khamir relatif rendah, sehingga kadar etanol yang terbentuk memiliki kadar rendah. Sehingga kadar etanol yang terbentuk dalam kristal alga tidak terlalu tinggi (Bahar, 2008). Kadar etanol kristal alga terus meningkat selama 7 hari. Menurut Fardiaz (1992), semakin banyak gula yang terkandung dalam medium pertumbuhan kristal alga maka proses fermentasi akan terus meningkat. Peningkatan kadar etanol namun berbanding terbalik dengan nilai derajat keasaman medium fermentasi (Barnett dkk., 2000).

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian variasi kismis dan sukrosa terhadap kecepatan pertumbuhan total asam organik dan alkohol kristal alga dapat disimpulkan bahwa jumlah kismis dan gula pasir yang optimal terhadap pertumbuhan kristal alga adalah gula sebanyak 85 gram dan kismis sebanyak 15 gram. Kristal alga dengan penambahan medium gula 85 gram dan kismis 15 gram mempunyai nilai pH tertinggi yaitu 4,04 dan 3,97, kadar asam total tertinggi yaitu 2,981% dan 3,267%, dan kadar gula reduksi tertinggi yaitu 2,16 dan 2,21 mg/ml setelah fermentasi selama 7 hari. Pertambahan berat kristal alga memiliki hasil peningkatan berat segar berkisar 0,66 hingga 1,21 gram, sedangkan peningkatan berat kering berkisar 1,6 hingga 3,6 gram. Kadar etanol kristal alga berkisar 0,56 hingga 0,62%.

Saran yang diperlukan pada penelitian kristal alga adalah pemberian medium dengan komposisi kismis dan gula lebih dari 15 gram dan 85 gram. Waktu fermentasi kristal alga dilakukan lebih dari 7 hari.

Daftar Pustaka

- Alsayadi, M. Ms., Al Jawfi, Y., Belarbi, M., dan Sabri F. Z. 2013. Antioxydant Potency of Water Kefir. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2(6): 2444-2447.
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Susu Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kesehatan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Barnett, J. A., Payne, R. W., dan Yarrow, D. 2000. *Yeast Characteristic and Identification*. Cambridge University Press. New York.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

- Farnworth, E. dan Mainville, I. 2008. *Kefir- A Fermented Milk Product. In Handbook of Fermented Functional Food*. Second Edition. Farnworth Edward R. Broken Sound Parkway NW, Taylor & Francis Group, LLC. 89-127.
- Ghoneum, M. Dan Gimzewski, J. 2014. Apoptotic effect of a novel kefir product, PFT, on Multidrug-resistant myeloid leukemia cells via a hole-piercing mechanism. <http://www.spandidos-publications.com/ijo/44/3/830>. 24 April 2015.
- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M., dan Vogel, R. 2011. The microbial diversity of water kefir. *International Journal of Food Microbiology*. 151, 284-288.
- Hidayat, N., Padaga, M. C., dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Kebler, L. F. 1921. California Bees. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 10 (12), 939-943.
- Lehninger, A. L. 1990. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 2. (diterjemahkan oleh : Thenawidjaja. Institut Pertanian. Penerbit Erlangga. Bogor. 73-102.
- Lutz, M. L. 1899. Recherches biologiques sur la constitution du Tibi, *Bulletin de la Societe Mycologique de France*. 15, 68-72.
- Misrianti B. 2013. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Pembuatan Whey Kerbau Fermentasi terhadap Penghambatan Bakteri Patogen. *Skripsi*. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Meiridiyanto, G. 2005. Nilai Gizi Kefir Susu Skim dengan berbagai Variasi Penambahan Kadar Madu. *Skripsi*. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atmajaya. Yogyakarta.
- Pogacic, T., Sinko, S., Zamberlin, S., dan Samarzija, D. 2013. Microbiota of Kefir Grains. Department of dairy science, faculty of Agriculture University of Zagreb, Svetosimunska 25, 10000 Zagreb, Croatia. *Mljekarstvo* 63(1):3-14.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikrobia*. Bumi Aksara. Jakarta. 30-217.
- Rahman, A., Fardiaz, S., Rahaju, W. P., Suliantari, dan Nurwitri, C. C. 1992. *Bahan Pengajaran Teknologi Fermentasi Susu*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.

Schneedorf, J. M. 2012. *Kefir D'aqua and Its Probiotic Properties*. Chapter 3. Intech. 53-76.

Stadie, J. 2013. *Metabolic Activity and Symbiotic Interaction of Bacteria and Yeasts in Water Kefir*. Technische Univesitat Muchen. 1-107.

